微量元素添加模式对肉鸡生长性能、微量元素代谢和血浆抗氧化性能的影响

濮振宇　辛洪亮　余　超　王砀砀　雷新宇　姚军虎*　杨小军*

（西北农林科技大学动物科技学院，杨陵 712100）

摘　要：本试验旨在研究不同微量元素添加模式对肉鸡生长性能、微量元素代谢和血浆抗氧化性能的影响。选取 720 羽 1 日龄科宝（Cobb 500）肉鸡，随机分为 4 个组，每个组 10 个重复，每个重复 18 只鸡。行业标准组：按照农业行业标准 NY/T 33—2004 添加铜、铁、锌和锰。NRC 标准组：按照 NRC（1994）推荐量添加铜、铁、锌和锰。NRC 比例组：实测基础饲粮中铜、铁、锌、锰的含量，以过量最多的铜（相对于 NRC 标准）的倍数补齐其余 3 种元素。相对生物学效价组：假设基础饲粮中微量元素的生物学利用率为额外添加硫酸盐的 30%，对其含量进行校准后按照 NRC 比例组的方法添加。微量元素都以硫酸盐形式添加，试验期 42 d。结果表明：1）不同微量元素添加模式未对肉鸡生长性能和死亡率造成显著差异（P>0.05）。2）21 日龄时，NRC 比例组肉鸡十二指肠铜转运蛋白 1（*Ctr*1）的 mRNA 相对表达量显著高于其余各组（P<0.05），NRC 比例组和相对生物学效价组肉鸡十二指肠二价金属转运蛋白 1（*DMT*1）的 mRNA 相对表达量显著高于其余 2 组（P<0.05）；42 日龄时，NRC 标准组和相对生物学效价组肉鸡十二指肠 *DMT*1 的 mRNA 相对表达量显著高于其余 2 组（P<0.05）；各组间 21 和 42 日龄肉鸡十二指肠锌转运蛋白 1（*ZnT*1）和锌转运蛋白 5（*ZnT*）5 的 mRNA 相对表达量没有显著差异（P>0.05）。3）21 日龄时，NRC 比例组和相对生物学效价组肉鸡血浆总抗氧化能力（T-AOC）显著高于其余 2 组（P<0.05）；42 日龄时，与相对生物学效价组相比，NRC 比例组肉鸡血浆过氧化氢酶（CAT）活性显著下降（P<0.05）。4）粪便中微量元素浓度和饲粮的微量元素添加浓度存在显著的正相关关系（P<0.05）。由此可见，从微量元素吸收效率和肉鸡血浆抗氧化性能来看，考虑基础饲粮微量元素相对生物学效

收稿日期：2016-02-29

项目基金：陕西省科技统筹创新工程计划项目（2015KTCQ02-19，2015KTCL02-10）

作者简介：濮振宇（1992—），男，河南信阳人，硕士研究生，动物营养与饲料科学专业。E-mail: 15914342284@163.com

*通信作者：姚军虎，教授，博士生导师，E-mail: yaojunhu2004@sohu.com；杨小军，教授，博士生导师，E-mail: yangxj@nwsuaf.edu.cn

价并按NRC比例添加是更适宜的添加模式，同时减少了粪便中微量元素的排泄。

关键词：微量元素；生长性能；抗氧化；微量元素代谢；肉鸡

中图分类号：S831　　　　　　　　文献标识码：　　　　　　　　文章编号：

铜、铁、锌、锰是家禽必需的微量元素，常以酶辅基的形式参与机体各种生理代谢反应，涉及消化吸收、生物合成和免疫机能维持等多个方面[1]。但与常量营养素相比，微量元素营养需要量的研究相对滞后。尽管 NRC（1994）给出了明确的推荐量，但为了避免当前肉鸡快速生长过程中可能出现的微量元素缺乏症，生产中常忽略基础饲粮中铜、铁、锌、锰的含量而过量添加。过量添加不仅降低了肉鸡对微量元素的整体利用率，还有可能引起微量元素的吸收拮抗，导致某些微量元素的缺乏[2]。因而，合理高效添加铜、铁、锌、锰是保证肉鸡最佳生理状态和提高微量元素利用率的关键。

研究表明，氨基酸螯合盐的生物学利用率高于无机盐[3-4]，在饲粮中用低水平的氨基酸螯合盐替代传统无机盐，可以在不影响肉鸡的生长性能的前提下显著减少粪便中微量元素的含量。在肉鸡应激的条件下，其利用效率的优势更加明显，且能明显改善肉鸡免疫性能[5]。但由于其成本高且利用率受自身螯合强度影响较大[6]，目前生产中尚未普遍使用。就无机微量元素而言，单一微量元素需要量的研究已经证明肉鸡微量元素的需要量随基础饲粮的不同而改变[7]，且单一元素添加试验的研究结果因为忽略了微量元素间的交互作用而限制了其应用效果。近年来关于肉鸡饲粮铜、铁、锌和锰组合添加的研究逐渐增多，有研究表明，将肉鸡饲粮微量元素预混料中的铜、铁、锌、锰添加量减少 80%不影响肉鸡的生长性能[8]。此外，已经有研究开始关注基础饲粮中微量元素对于微量元素协同添加的影响，比如 Zhong 等[9]向蛋鸡基础饲粮补充铜、铁、锌、锰使饲粮微量元素逐步趋于平衡，证明平衡添加促进了蛋鸡的对铜、铁、锌和锰的沉积。由于基础饲粮中微量元素和额外添加硫酸盐所处状态的不同[10]，二者的利用率可能存在差异，但目前同时考虑基础饲粮微量元素含量及其利用效率的研究鲜有报道。本研究以 NRC（1994）给出的肉鸡铜、铁、锌、锰的添加比例为依据，考虑基础饲粮微量元素及其相对利用效率，研究不同添加模式下肉鸡生长性能、微量元素吸收和排泄以及血浆抗氧化性能，旨在为肉鸡微量元素合理添加提供有益的参考。

1 材料与方法

1.1 试验动物、饲粮和试验设计

试验选择720羽1日龄科宝（Cobb 500）肉仔鸡，随机分为4个组，每个组10个重复，每个重复18只鸡。饲粮营养水平参考NRC（1994）肉鸡营养需要，基础饲粮的组成及营养水平见表1。行业标准组：直接按照农业行业标准NY/T 33—2004给出的推荐量添加，以下简称“行标组”；NRC标准组：直接按照NRC（1994）给出推荐量添加，以下简称“国标组”；NRC比例组：实测基础饲粮中铜、铁、锌和锰的含量，以其中超过NRC标准最多元素的倍数去补齐其余的3种元素；相对生物学效价组：实测基础饲粮中微量元素含量后，由于植物中有机分子易与金属离子络合[10]，以植酸为例，饲粮中0.4%~0.6%的植酸就会使金属离子吸收率下降至30%~40%[11]，而常用饲料原料中植酸含量均大于1%[12]，故假设基础饲粮中微量元素的生物学利用率为额外添加硫酸盐的30%，校准饲粮中微量元素后按照NRC比例组方法添加。微量元素都以硫酸盐形式添加，试验期42 d。各组微量元素添加浓度见表2。肉仔鸡自由采食，充足饮水，按正常免疫程序进行免疫接种。

表1　基础饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of basal diets (air-dry basis)　　%

项目 Items	含量 Contents	
	1~21日龄 1 to 21 days of age	22~42日龄 22 to 42 days of age
原料 Ingredients		
玉米 Corn	57.50	61.02
豆粕 Soybean meal	35.06	30.06
棉籽粕 Cottonseed meal	2.00	4.00
豆油 Soybean oil	2.00	2.00
石粉 Limestone	2.00	1.70
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.30	0.30
食盐 NaCl	0.36	0.35
植酸酶 Phytase	0.01	0.01
预混料 Premix[1)]	0.33	0.33
DL-蛋氨酸 *DL*-Met	0.25	0.12
L-赖氨酸盐酸盐 *L*-Lys•HCl	0.14	0.06
氯化胆碱 Choline chloride	0.05	0.05
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels[2)]		
代谢能 ME/(MJ/kg)	12.45	12.87
粗蛋白质 CP	21.60	20.40
钙 Ca	0.92	0.80
有效磷 AP	0.40	0.40
赖氨酸 Lys	1.21	1.08
蛋氨酸 Met	0.59	0.44

蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.92	0.77
铜 Cu/(mg/kg)	13.90	16.65
铁 Fe/(mg/kg)	105.70	113.15
锌 Zn/(mg/kg)	41.80	44.90
锰 Mn/(mg/kg)	17.95	21.35

1)预混料（不含铜、铁、锌、锰）为每千克饲粮提供 The premix （without Cu, Fe, Zn and Mn） provided the following per kg of diets：VA 8 000 IU，VB_1 2.0 mg，VB_2 8 mg，VB_5 40 mg，VB_6 3.5 mg，VB_7 mg，叶酸 folic acid 0.55 mg，泛酸 pantothenic acid 10.0 mg，VD_3 1 000 IU，VE 25 IU，VK 0.5 mg，抗氧化剂 antioxidant 400 mg，I (as potassium iodide) 0.75 mg，Se (as sodium selenite) 0.3 mg。

2)铜、铁、锌、锰含量为原子吸收的实测值，其余为计算值。The contents of Cu, Fe, Zn and Mn were measured by atomic absorption spectrometry, while the others were calculated values.

表 2 不同微量元素添加模式下铜、铁、锌、锰的添加浓度

Table 2 The adding concentration of copper, iron, zinc, manganese under different supplemental patterns of trace minerals mg/kg

项目 Items	1~21 日龄 1 to 21 days of age				22~42 日龄 22 to 42 days of age			
	铜 Cu	铁 Fe	锌 Zn	锰 Mn	铜 Cu	铁 Fe	锌 Zn	锰 Mn
行标组 Industrial standard group	8.0	100.0	100.0	120.0	8.0	80.0	80.0	120.0
国标组 NRC standard group	8.0	80.0	40.0	60.0	8.0	80.0	40.0	60.0
NRC 比例组 NRC proportion group		33.5	27.8	86.5		53.3	38.3	103.5
相对生物学效价组 Relative bioavailability group	3.8	48.3	27.5	54.6	3.0	46.0	26.5	53.6

1.2 样品采集和指标测定

1.2.1 生长性能

试验期的第 21 天和第 42 天，以重复为单位称重，肉鸡称重前空腹 8 h，记录肉鸡采食量，计算 1~21 日龄和 22~42 日龄及全期肉鸡的平均日采食量（average daily feed intake,ADFI）、平均日增重（average daily gain,ADG）和料重比（feed to gain ratio,F/G）。

1.2.2 血浆抗氧化性能

试验第 21 天和第 42 天，每重复选取 1 只体重接近平均体重的肉鸡，翅下静脉采血 5 mL，加肝素钠抗凝，迅速 3 000 r/min 离心 10 min，吸取上层血浆分装后放入-20 ℃冰箱保存。使用南京建成试剂盒测定血浆总抗氧化能力（T-AOC）、过氧化氢酶（CAT）活性、总超氧化

物歧化酶（T-SOD）活性。

1.2.3　十二指肠金属离子转运载体 mRNA 相对表达量

截取肉鸡相近位置的十二指肠，用预冷灭菌生理盐水冲洗，再用灭菌载玻片刮下中间部位的小肠黏膜，置于液氮冻存，用于检测二价金属转运蛋白 1（divalent metal transporter 1,*DMT*1）、铜转运蛋白 1（copper transporter 1,*Ctr*1）、锌转运蛋白 1（zinc transporter 1,*ZnT*1）和锌转运蛋白 5（zinc transporter 5,*ZnT*5）的 mRNA 相对表达量。黏膜中总 RNA 提取使用柱式动物总 RNA 提取试剂盒（天恩泽，北京），提取步骤严格参照试剂盒说明书。检测 RNA 的质量和纯度合格后立即进行反转录和实时定量 PCR。反转录和定量反应使用的试剂盒分别为 PrimeScript^{RT} reagent Kit With gDNA Eraser 和 SYBR Premix Ex Taq TM Ⅱ（Takara）。目标基因的引物使用 Premier 5.0 设计（表 3），由上海生工有限公司合成。根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式[13]计算目标基因的 mRNA 相对表达量，其中 ΔΔCt=（待测组目标基因 Ct 值–待测组内参基因 Ct 值）—（对照组目标基因 Ct 值-对照组内参基因 Ct 值）。

表 3　内参和目标基因序列

Table 3　Primer sequences of reference gene and target genes

基因 Genes	GenBank 序列号 GenBank No.	引物序列 Primer sequences (5′—3′)	产物大小 Product size/bp
β-肌动蛋白 β-actin	L08165	F: AACACCCACACCCCTGTGAT R:TGAGTCAAGCGCCAAAAGAA	100
二价金属转运蛋白 1 *DMT*1	EF635922 EF635923	F:AGCCGTTCACCACTTATTTCG R:GGTCCAAATAGGCGATGCTC	210
铜转运蛋白 1 *Ctr*1	NM_001305656.1	F:TCCTGGAGAAATGGCTGGTG R:TGTAGCGAATGCTGACTTGG	119
锌转运蛋白 1 *ZnT*1	AJ619980	F:TGCGAGTGCCTTCTTCCT R:AAGGAGCTGTCAGGTCTGTAAT	131
锌转运蛋白 5 *ZnT*5	NM_001031419	F:ATGCTGTTGTGGGATGTA R:TTGTCTTGGCTGGTCCTC	159

1.2.4　粪便中微量元素浓度

试验的第 18 天、第 38 天，以重复为单位连续收集 3 d 的粪便，称重并置于-20 ℃冻存。火焰吸收法测定绝干粪样中的铜、铁、锌和锰的浓度。

1.3　数据统计分析

肉鸡死亡率数据采用卡方检验进行统计分析，其余数据采用 SPSS 21.0 进行单因素方差

分析，Duncan 氏法进行多重比较，*P*<0.05 表示差异达显著水平。

2 结 果

2.1 不同饲粮微量元素添加模式对肉鸡生长性能和死亡率的影响

由表 4 可知，不同微量元素添加模式对肉鸡的平均日采食量、平均日增重、料重比以及死亡率没有显著影响（*P*>0.05）。

表 4 不同饲粮微量元素添加模式对肉鸡生长性能和死亡率的影响

Table 4 Effects of different supplemental patterns of trace minerals on growth performance and mortality rate in broilers

日龄 Days of age	项目 Items	行标组 Industrial standard group	国标组 NRC standard group	NRC 比例组 NRC proportion group	相对生物学效价组 Relative bioavailability group	SEM	*P* 值 *P*-value
1~21	平均日采食量 ADFI/g	45.0	44.7	45.6	45.4	0.27	0.646
	平均日增重 ADG/g	31.1	30.8	31.5	31.5	0.16	0.318
	料重比 F/G	1.44	1.45	1.45	1.46	0.01	0.653
22~42	平均日采食量 ADFI/g	124.4	126.2	126.0	126.8	0.94	0.886
	平均日增重 ADG/g	66.1	67.9	66.8	67.9	0.47	0.681
	料重比 F/G	1.88	1.90	1.90	1.89	0.01	0.886
1~42	平均日采食量 ADFI/g	84.7	85.4	85.8	86.4	0.50	0.857
	平均日增重 ADG/g	48.6	49.4	49.0	49.7	0.25	0.692
	料重比 F/G	1.74	1.75	1.73	1.74	0.01	0.824
1~42	死亡率 Mortality rate/%	3.89	5.00	2.22	3.89		0.721

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著（*P*<0.05），相同或无字母表示差异不显著（*P*>0.05）。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference (*P*<0.05), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference (*P*>0.05). The same as below.

2.2 不同微量元素添加模式对肉鸡十二指肠金属转运蛋白 mRNA 相对表达量的影响

由表 5 可知，21 日龄时，NRC 比例组肉鸡十二指肠 *Ctr*1 的 mRNA 相对表达量显著高于其余各组（*P*<0.05）；而 42 日龄时，各组 *Ctr*1 的 mRNA 相对表达量无显著差异（*P*>0.05）。21 日龄时，NRC 比例组和相对生物学效价组肉鸡十二指肠 *DMT*1 的 mRNA 相对表达量显著高于行标组和国标组（*P*<0.05）；而 42 日龄时，国标组和相对生物学效价组肉鸡十二指肠 *DMT*1 的 mRNA 相对表达量较显著高于其余 2 组（*P*<0.05）；21 和 42 日龄，各组间肉鸡十

二指肠 *ZnT*1 和 *ZnT*5 的 mRNA 相对表达量均没有显著差异（*P*>0.05）。

表 5　肉鸡十二指肠 *Ctr*1、*DMT*1、*ZnT*1、*ZnT*5 的 mRNA 相对表达量

Table 5　Relative mRNA expression of *Ctr*1, *DMT*1, *ZnT*1 and *ZnT*5 in duodenum of broilers

项目 Items	行标组 Industrial standard group	国标组 NRC standard group	NRC 比例组 NRC proportion group	相对生物学效价组 Relative bioavailability group	SEM	*P* 值 *P*-value
21 日龄 21 days of age						
铜转运蛋白 1 *Ctr*1	0.73[b]	0.93[b]	1.78[a]	0.95[b]	0.14	0.019
二价金属转运蛋白 1 *DMT*1	0.48[b]	0.51[b]	0.90[a]	1.17[a]	0.09	0.005
锌转运蛋白 1 *ZnT*1	0.86	1.15	1.32	0.97	0.09	0.289
锌转运蛋白 5 *ZnT*5	0.82	1.00	1.27	1.11	0.08	0.208
42 日龄 42 days of age						
铜转运蛋白 1 *Ctr*1	1.07	1.05	1.22	1.07	0.06	0.912
二价金属转运蛋白 1 *DMT*1	0.60[b]	1.36[a]	0.64[b]	1.15[a]	0.09	0.008
锌转运蛋白 1 *ZnT*1	0.83	0.91	1.39	1.07	0.05	0.320
锌转运蛋白 5 *ZnT*5	1.03	1.08	1.12	0.87	0.04	0.132

2.3　不同微量元素添加模式对肉鸡血浆抗氧化性能的影响

由表 6 可知，21 日龄时，NRC 比例组和相对生物学效价组肉鸡血浆 T-AOC 显著高于行标组和国标组（*P*<0.05）。42 日龄时，相对生物学效价组肉鸡血浆 CAT 活性显著高于 NRC 比例组（*P*<0.05），其余各组差异不显著（*P*>0.05）。各组肉鸡血浆 T-SOD 活性在 21、42 日龄均未见显著差异（*P*>0.05）。

表 6　不同微量元素添加模式对肉鸡血浆抗氧化性能的影响

Table 6　Effects of different supplemental patterns of trace minerals on plasma antioxidant ability of broilers　U/mL

项目 Items	行标组 Industrial standard group	国标组 NRC standard group	NRC 比例组 NRC proportion group	相对生物学效价组 Relative bioavailability group	SEM	*P* 值 *P*-value
21 日龄 21 days of age						
总抗氧化能力 T-AOC	4.07[b]	3.33[b]	5.40[a]	5.52[a]	0.28	0.005
总超氧化物歧化酶 T-SOD	132.03	139.07	135.07	149.75	2.68	0.108
过氧化氢酶 CAT	1.70	1.77	1.24	1.81	0.18	0.249
42 日龄 42 days of age						
总抗氧化能力 T-AOC	5.42	7.34	6.66	5.65	0.31	0.092
总超氧化物歧化酶 T-SOD	150.46	157.33	153.31	154.39	3.45	0.768
过氧化氢酶 CAT	0.75[ab]	0.66[ab]	0.45[b]	1.05[a]	0.07	0.028

2.4　粪便中微量元素浓度和饲粮微量元素添加浓度间的回归分析

由表 7 可知，在 21、42 日龄时，NRC 比例组肉鸡粪便中铜浓度均显著低于其余各组（$P<0.05$），NRC 比例组和相对生物学效价组肉鸡粪便中铁浓度显著低于行标组和国标组（$P<0.05$），行标组肉鸡粪便中的锌浓度显著高于其余各组（$P<0.05$），行标组和 NRC 比例组肉鸡粪便中锰浓度显著高于国标组和相对生物学效价组（$P<0.05$）。

表 7　不同微量元素添加模式对肉鸡排粪量和粪便中微量元素浓度的影响

Table 7　Effects of different supplemental patterns of trace minerals on amount of feces and concentration of trace minerals in feces of broilers

项目 Items	日龄 Days of age	行标组 Industrial standard group	国标组 NRC standard group	NRC 比例组 NRC proportion group	相对生物学效价组 Relative bioavailability group	SEM	*P* 值 *P*-value
粪便中微量元素浓度 The concentration of trace minerals in feces/(mg/kg)							
铜 Cu	21	47.6[a]	50.4[a]	23.5[c]	33.0[b]	3.11	<0.001
	42	19.0[a]	17.1[ab]	9.8[c]	13.7[b]	1.05	0.001
铁 Fe	21	729.1[b]	802.8[a]	645.0[c]	639.5[c]	20.58	0.001
	42	544.0[a]	545.0[a]	477.0[b]	422.7[b]	16.92	0.002
锌 Zn	21	380.2[a]	330.1[b]	274.1[c]	268.1[c]	12.64	<0.001
	42	384.1[a]	246.5[b]	239.0[b]	204.0[b]	20.03	<0.001
锰 Mn	21	414.3[b]	315.7[c]	476.5[a]	291.5[c]	20.32	<0.001
	42	346.9[a]	237.5[b]	326.3[a]	202.2[c]	15.83	<0.001

排粪量 Amount of feces/[g/(d • 只)]	21	14.0	13.7	14.4	13.2	0.32	0.669
	42	35.3	34.9	35.4	34.7	0.84	0.775

排粪量和粪便中微量元素浓度均以干物质样计。Amount of feces and concentration of trace minerals in feces were calculated by DM.

由表 8 可知，肉鸡粪便中的铜、铁、锌和锰的浓度和饲粮中对应的微量元素添加浓度之间存在显著的正相关关系（P<0.05）。

表 8　肉鸡粪便中微量元素浓度和饲粮微量元素添加浓度的线性回归分析

Table 8　Linear regression analysis of fecal trace minerals concentration with dietary supplemental concentration of trace minerals

项目 Items	日龄 Days of age	回归方程 Regression equation	决定系数 R^2	P 值 P-value
铜 Cu	21	y =3.398x+21.375	0.89	<0.001
	42	y =1.136x+9.574	0.93	<0.001
铁 Fe	21	y =4.416x+414.386	0.81	<0.001
	42	y =3.522x+269.723	0.87	<0.001
锌 Zn	21	y =2.921x+162.465	0.53	<0.001
	42	y =3.678x+92.854	0.86	<0.001
锰 Mn	21	y =2.442x+163.251	0.74	<0.001
	42	y =2.018x+110.709	0.90	<0.001

y=粪便中微量元素浓度（mg/kg DM）；x=微量元素添加浓度（mg/kg DM）。

y= fecal trace minerals concentration (mg/kg DM); x=supplemental concentration of trace minerals (mg/kg DM).

3　讨　论

3.1　不同微量元素添加模式对肉鸡生长性能和死亡率的影响

本试验结果表明，与行标组和国标组相比，考虑基础饲粮中微量元素以及基础饲粮中微量元素相对生物学效价的 2 种添加模式都在保证肉鸡的生长性能不受影响的前提下，减少了硫酸盐的使用。不考虑基础饲粮中微量元素的组添加水平更高但未对肉鸡生长性能产生影响可能是因为基础饲粮微量元素的不平衡性。之前的研究也证明，肉鸡消耗不含微量元素的纯合饲粮时对于铜、铁、锌和锰的需要量明显低于采食商品用饲粮时的需要量[14]，原因就是饲粮中微量元素干扰了整体的平衡性，降低了微量元素的利用率而导致需要量增加。NRC 比例组和相对生物学效价组的肉鸡生长性能也未见差异，这表明本试验条件下，是否考虑基础饲粮微量元素的相对生物利用率不会对肉鸡生长性能上造成明显差异，但考虑相对生物学效价组降低了 22~42 日龄硫酸盐的使用量。

3.2　不同微量元素添加模式对肉鸡十二指肠金属转运载体 mRNA 相对表达量的影响

*DMT*1 是十二指肠上皮细胞摄取铁和锰的关键蛋白质，且具有维持机体铁和锰稳态的作用[15-16]。本研究发现，21 日龄时 *DMT*1 在 NRC 比例组和相对生物学效价组肉鸡十二指肠的 mRNA 相对表达量显著高于行标组和国标组，这反映了不同添加模式下肉鸡十二指肠对于二价金属离子铁和锰吸收效率的差异较大。而目前的研究表明，铁吸收的效率受机体铁营养状况的影响很大，当体内铁过量时，肝脏合成的铁调素（hepcidin,Hepc）增加，Hepc 能与受体转铁蛋白 1（ferroportin1,Fpn1）结合，引起 Fpn1 的内化降解。而 Fpn1 是十二指肠上皮细胞和巨噬细胞的铁转出载体，Fpn1 降解会降低血液循环中的铁含量，但肠上皮细胞内铁浓度会逐渐增加[17]。这时细胞内铁反应元件/铁调控蛋白（IRE/IRP）会响应细胞内铁浓度增加，降低 *DMT*1 的表达水平[18]。因此，行标组和国标组肉鸡十二指肠 *DMT*1 的 mRNA 相对表达量降低的原因可能与这 2 种添加模式下铁添加水平较高有关。

42 日龄时考虑基础饲粮微量元素的 NRC 比例组肉鸡十二指肠 *DMT*1 的 mRNA 相对表达量反而低于国标组，这可能是因为 22~42 日龄 NRC 比例组饲粮中锰水平的影响。之前在蛋鸡上的试验表明，十二指肠 *DMT*1 的 mRNA 相对表达量随着饲粮锰浓度的增加而降低[19]，由此可知 *DMT*1 的表达受到饲粮铁和锰的共同调控，但发挥主效应的元素可能是由添加水平和肉鸡的生长阶段共同决定。研究发现，1~21 日龄基础饲粮中的铁已经能满足肉鸡生长发育的需要[20]，而肉鸡前期对锰的需要量高于后期。1~22 日龄肉鸡生长在快速生长时期，依赖锰的生理、生化过程较多，因此锰的适宜添加量约为 NRC（1994）推荐量的 2 倍[21]，而 22~42 日龄肉鸡锰的需要量明显降低[22]。本试验结果说明，肉鸡前期十二指肠 *DMT*1 的 mRNA 相对表达量可能主要受到饲粮中过高的铁水平的影响，而后期由于肉鸡对锰需要量的降低，NRC 比例组饲粮的锰水平超过肉鸡的需要量，导致肉鸡十二指肠 *DMT*1 的 mRNA 相对表达量降低。

本试验结果表明，各组肉鸡十二指肠 *ZnT*1 和 *ZnT*5 的 mRNA 相对表达量没有显著差异，这表明各添加模式未对十二指肠的锌吸收造成明显差异。作为锌的转运蛋白，*ZnT*5 和 *ZnT*1 被证明分别负责锌在十二指肠上皮细胞的吸收和转出[23-24]。研究表明，小鼠饲粮锌水平的提高会诱导 *ZnT*1 mRNA 和蛋白质表达量的增加，但饲粮锌的缺乏不会显著影响 *ZnT*1 的表达[25-26]。于昱等[24]通过肉鸡小肠原位结扎灌注试验也发现随着灌注液锌离子浓度的增加，十

二指肠 *ZnT*5 的表达有下降的趋势。因此，十二指肠的锌转运蛋白表达水平可在一定程度上反映出机体内的锌营养状况。

铜转运蛋白（Ctr）是一类铜离子特异性的摄入蛋白，其中以 Ctr1 转运能力最强[27]。Li 等[28]通过鸡全基因组芯片分析胚胎期 18 d 到孵化后 14 d 小肠可溶性载体家族基因表达轮廓。发现小肠中 41 个可溶性载体家族的 162 个基因，其中包括可以转运铜的 *Ctr*1。Kuo 等[29]研究证实，小鼠十二指肠 *Ctr*1 的 mRNA 表达水平、蛋白质丰度会随着铜的缺乏而增加。本研究发现，21 天日龄时饲粮中未添加铜的 NRC 比例组肉鸡十二指肠 *Ctr*1 的 mRNA 相对表达量显著高于其余各组；而 42 天日龄时，各组肉鸡十二指肠 *Ctr*1 的 mRNA 表达量没有显著差异。出现这种情况的原因可能是由于 22~42 日龄肉鸡自身对于铜的需求量的减少，或是前期 NRC 比例组补偿性 *Ctr*1 mRNA 表达使肉鸡的铜营养状况得到改善。

由本试验的结果可知，铜、铁、锌、锰的过量添加可能降低转运载体的相对表达量而影响其利用率，且由于部分元素共用同一转运载体，如铁和锰，二者的不平衡添加会导致某一元素的利用受阻。而相对生物效价组因为平衡且适量的添加提高了转运载体的相对表达量。

3.3　不同微量元素添加模式对肉鸡血浆抗氧化性能的影响

铜是铜锌超氧化物歧化酶（CuZn-SOD）的催化活性中心，而锌对酶结构的维持具有重要作用。研究表明，肉鸡饲粮中铜缺乏时，血浆中 CuZn-SOD 的活性会随之下降。类似的，肝脏和心脏组织中锰超氧化物歧化酶（Mn-SOD）活性也受饲粮锰水平影响很大[30]。此外，铜、铁、锌和锰的交互作用也会对血浆抗氧化酶活性产生影响，如饲粮中高锌会降低铜的吸收率，从而影响铜超氧化物歧化酶（Cu-SOD）的活性[31]。而饲粮铜缺乏时，同样会引起铁的利用受阻，降低 CAT 的活性[32]。由此可知饲粮铜、铁、锌和锰的平衡添加有利于肉鸡的抗氧化性能。本试验发现，21 日龄时行标组和国标组的肉鸡血浆 T-AOC 显著低于 NRC 比例组和相对生物学效价组，这表明高剂量的添加反而降低了血浆的抗氧化性能，这可能是因为直接添加导致微量元素不平衡吸收，影响了微量元素的利用[9]。42 日龄时，NRC 比例组的肉鸡血浆 CAT 活性显著低于考虑基础饲粮微量元素的相对生物学效价组，这是因为后期 NRC 比例组肉鸡十二指肠 *DMT*1 和铁添加水平都相对较低。

3.4　粪便中微量元素浓度和饲粮微量元素添加浓度间的回归分析

通过线性回归分析发现，肉鸡粪便中的铜、铁、锌和锰的浓度随着饲粮中微量元素添加

浓度的增加而上升，因为肉鸡对铜、铁、锌、锰的需要量和沉积量是有限的[33]，当微量元素持续的过量添加时，其吸收效率会大幅下降，绝大部分摄入的微量元素都随粪便排泄到外界环境中，造成环境污染和资源浪费。

4 结 论

本试验条件下，考虑基础饲粮微量元素相对生物学效价的添加组合可以通过十二指肠微量元素的平衡吸收改善血浆抗氧化性能，并减少了粪便中微量元素的排泄。

参考文献：

[1] RICHARDS J D,ZHAO J M,HARRELL R J,et al.Trace mineral nutrition in poultry and swine[J].Asian-Australasian Journal of Animal Sciences,2010,23(11):1527–1534.

[2] CREECH BL,SPEARS J W,FLOWERS W L,et al.Effect of dietary trace mineral concentration and source (inorganic vs. chelated) on performance,mineral status,and fecal mineral excretion in pigs from weaning through finishing[J].Journal of Animal Science,2004,82(7):2140–2147.

[3] MANANGI M K,VAZQUEZ-AÑON M,RICHARDS J D,et al.Impact of feeding lower levels of chelated trace minerals versus industry levels of inorganic trace minerals on broiler performance,yield,footpad health,and litter mineral concentration[J].The Journal of Applied Poultry Research,2012,21(4):881–890.

[4] YENICE E,MIZRAK C,GÜLTEKIN M,et al.Effects of organic and inorganic forms of manganese,zinc,copper,and chromium on bioavailability of these minerals and calcium in late-phase laying hens[J].Biological Trace Element Research,2015,167(2):300–307.

[5] GHAZI S,HABIBIAN M,MOEINI M M,et al.Effects of different levels of organic and inorganic chromium on growth performance and immunocompetence of broilers under heat stress[J].Biological Trace Element Research,2012,146(3):309–317.

[6] 冯定远.多元螯合与多重螯合微量元素的理论及其在饲料业中的应用[J].动物营养学报,2014,26(10):2956–2963.

[7] 马新燕,吕林,解竞静,等.肉鸡铁营养需要量的研究进展[J].动物营养学报,2012,24(7):1193–1200.

[8] WANG Z,CERRATE S,YAN F,et al.Comparison of different concentrations of inorganic trace minerals in broiler diets on live performance and mineral excretion[J].International Journal of Poultry Science,2008,7(7):625–629.

[9] ZHONG L L,YAO J H,CHENG N,et al.Effects of supplementing with single or multiple trace minerals on growth performance,fecal mineral excretion and nutrient utilization in pullets from 1 to 18 weeks of age[J].Asian-Australasian Journal of Animal Sciences,2007,20(6):976–982.

[10] SALT D E,PRINCE R C,PICKERING I J.Chemical speciation of accumulated metals in plants:evidence from X-ray absorption spectroscopy[J].Microchemical Journal,2002,71(2/3):255–259.

[11] WINDISCH W,ETTFIE T.Limitations and possibilities for progress in defining trace mineral requirements of livestock[M]//SCHLEGEL P,DUROSOY S,JONGBLOED A W.Trace Elements in Animal Production Systems.Wageningen:Wageningen Academic Publishers,2008:187–201.

[12] 吕耀昌,傅翠真,李文星.大豆,食用豆,玉米和小麦籽粒中植酸和酸溶性总磷的分析研究[J].中国粮油学报,1991,6(4):2–4,7.

[13] LIVAK K J,SCHMITTGEN T D.Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method[J].Methods,2001,25(4):402–408.

[14] BAO Y M,CHOCT M.Trace mineral nutrition for broiler chickens and prospects of application of organically complexed trace minerals:a review[J].Animal Production Science,2009,49(4):269–282.

[15] BAI S P,LU L,WANG R L,et al.Manganese source affects manganese transport and gene expression of divalent metal transporter 1 in the small intestine of broilers[J].British Journal of Nutrition,2012,108(2):267–276.

[16] MCKIE A T,MARCIANI P,ROLFS A,et al.A novel duodenal iron-regulated transporter,IREG1,implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation[J].Molecular cell,2000,5(2):299–309.

[17] ZHANG Z Z,ZHANG F,AN P,et al.*Ferroportin1* deficiency in mouse macrophages impairs iron homeostasis and inflammatory responses[J].Blood,2011,118(7):1912–1922.

[18] YAMAJI S,SHARP P,RAMESH B,et al.Inhibition of iron transport across human intestinal epithelial cells by hepcidin[J].Blood,2004,104(7):2178–2180.

[19] BAI S P,HUANG L R,LUO Y H,et al.Dietary manganese supplementation influences the expression of transporters involved in iron metabolism in chickens[J].Biological Trace Element Research,2014,160(3):352–360.

[20] 陈思.微量元素对肉鸡生长性能影响的 Meta 分析[D].硕士学位论文.杨凌:西北农林科技大学,2013:24–25.

[21] LI S F,LIN Y X,LU L,et al.An estimation of the manganese requirement for broilers from 1 to 21 days of age[J].Biological Trace Element Research,2011,143(2):939–948.

[22] 孙翔骁.日粮铜、铁、锌、锰水平对肉鸡生长性能、肉品质量及免疫机能的影响[D].硕士学位论文.杨凌:西北农林科技大学,2009:26–28.

[23] DEVERGNAS S,CHIMIENTI F,NAUD N,et al.Differential regulation of zinc efflux transporters *ZnT*-1,*ZnT*-5 and *ZnT*-7 gene expression by zinc levels:a real-time RT–PCR study[J].Biochemical Pharmacology,2004,68(4):699–709.

[24] 于昱,吕林,罗绪刚,等.锌在肉仔鸡小肠不同部位吸收机理的研究[J].中国农业科学,2008,41(9):2789–2797.

[25] LIUZZI J P,BLANCHARD R K,COUSINS R J.Differential regulation of zinc transporter 1,2,and 4 mRNA expression by dietary zinc in rats[J].The Journal of Nutrition,2001,131(1):46–52.

[26] MCMAHONR J,COUSINS R J.Regulation of the zinc transporter ZnT-1 by dietary zinc[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,1998,95(9):4841–4846.

[27] BANCI L,BERTINI I,CANTINI F,et al.Cellular copper distribution:a mechanistic systems biology approach[J].Cellular and Molecular Life Sciences,2010,67(15):2563–2589.

[28] LI H,GILBERT E R,ZHANG Y,et al.Expression profiling of the solute carrier gene family in

chicken intestine from the late embryonic to early post-hatch stages[J].Animal Genetics,2008,39(4):407–424.

[29] KUO Y M,GYBINA A A,PYATSKOWIT J W,et al.Copper transport protein (Ctr1) levels in mice are tissue specific and dependent on copper status[J].The Journal of Nutrition,2006,136(1):21–26.

[30] JOHNSON F,GIULIVI C.Superoxide dismutases and their impact upon human health[J].Molecular Aspects of Medicine,2005,26(4/5):340–352.

[31] PANEMANGALORE M,BEBE F N.Effect of high dietary zinc on plasma ceruloplasmin and erythrocyte superoxide dismutase activities in copper-depleted and repleted rats[J].Biological Trace Element Research,1996,55(1/2):111–126.

[32] TAYLOR C G,BETTGER W J,BRAY T M.Effect of dietary zinc or copper deficiency on the primary free radical defense system in rats[J].The Journal of Nutrition,1988,118(5):613–621.

[33] MOHANNA C,NYS Y.Influence of age,sex and cross on body concentrations of trace elements (zinc,iron,copper and manganese) in chickens[J].British Poultry Science,1998,39(4):536–543.

Effects of Supplemental Patterns of Trace Minerals on Growth Performance, Trace Mineral Metabolism and Plasma Antioxidant Ability in Broilers

PU Zhenyu XING Hongliang YU Chao WANG Dangdang LEI Xinyu YAO Junhu*

YANG Xiaojun*

(*College of Animal Science and Technology*, *Northwest A&F University*, *Yangling* 712100, *China*)

Abstract: This experiment was conducted to determine the effects of different supplemental

*Corresponding authors: YAO Junhu, professor, E-mail: yaojunhu2004@sohu.com; YANG Xiaojun, professor, E-mail: yangxj@nwsuaf.edu.cn （责任编辑 武海龙）

patterns of trace minerals on growth performance, trace mineral metabolism and plasma antioxidant ability in broilers. A total of 720 one-day-old Cobb 500 broilers were randomly assigned to 4 groups, each group contained 10 replicates with 18 broilers per replicate. Industrial standard group: dietary copper (Cu), ferrum (Fe), zinc (Zn) and manganese (Mn) were added according to agriculture industrial standards NY/T 33—2004. NRC standard group: dietary Cu, Fe, Zn and Mn were added following NRC (1994) recommendation. NRC proportion group: after measurement of mineral content in basal diet, the highest multiple of Cu in basal diet to NRC recommendation was found, and then the rest of minerals were supplemented to reach same multiple. Relative bioavailability group: bioavailability of minerals in feed ingredients was assumed 30% relative to sulfates, and then practical contents were transformed into valid content of equivalent sulfate. Finally, adding sulfates as NRC proportion group. Trace minerals were provided as inorganic sulfates. The experiment lasted for 42 days. The results showed as follows: 1) different supplemental patterns of trace minerals did not cause significant differences on growth performance and mortality rate of broilers ($P>0.05$). 2) At 21 days of age, the relative mRNA expression of copper transporter 1 (*Ctr*1) in duodenum of broilers in NRC proportion group was significantly higher than that in other groups ($P<0.05$); the relative mRNA expression of divalent metal ion transporter 1 (*DMT*1) in duodenum of broilers in NRC proportion group and relative bioavailability group was significantly higher than that in other groups ($P<0.05$). At 42 days of age, the relative mRNA expression of *DMT*1 in duodenum of broilers in NRC standard group and relative bioavailability group was significantly higher than that in other groups ($P<0.05$). There were no significant differences on the relative mRNA expression of zinc transporter 1 (*ZnT*1) and zinc transporter 5 (*ZnT*5) among all groups at 21 and 42 days of age. 3) The plasma total antioxidant capacity (T-AOC) of broilers in NRC proportion group and relative bioavailability group was significantly higher than that in other groups at 21 day of age ($P<0.05$), while the plasma catalase (CAT) activity of broiler in NRC proportion was significantly lower than that in telative bioavailability group at 42 day of age ($P<0.05$). 4) Positive correlation between fecal trace minerals concentration and dietary supplemental concentration of trace minerals was observed

($P<0.05$). In conclusion, from the perspective of absorption efficiency and plasma antioxidant ability, programme considering relative bioavailability of trace minerals in basal diet is optimum, meanwhile, it reduce mineral excretion.

Key words: trace mineral; growth performance; antioxidant; mineral metabolism; broilers